

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/001029

International filing date: 02 February 2005 (02.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2004 005 193.3
Filing date: 02 February 2004 (02.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 21 March 2005 (21.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 10 2004 005 193.3

Anmeldetag: 02. Februar 2004

Anmelder/Inhaber: Medion Diagnostics GmbH,
Düdingen/CH

Bezeichnung: Vorrichtung und Verfahren zum Nachweis von
Analyten durch Sichtbarmachung und Separation von
Agglutination

IPC: G 01 N, B 01 L

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 04. März 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag



Schäfer

Medion Diagnostics GmbH

2. Februar 2004
M101319 BUW/Kös/brä

**Vorrichtung und Verfahren zum Nachweis von Analyten durch
Sichtbarmachung und Separation von Agglutination**

- 5 Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer Probenflüssigkeit durch Sichtbarmachung von Agglutinationsreaktionen, insbesondere Hämagglutinations- oder Partikelagglutinationsreaktionen.
- 10 Methoden zum Nachweis von Analyten durch Hämagglutinations- sowie Partikelagglutinationstests sind bekannt. Für Hämagglutinationstests sind Verfahren bekannt, bei denen Hämagglutinate durch einen Zentrifugationsschritt durch eine inerte Matrix von einzelnen nicht-agglutinierten Erythrozyten getrennt werden (z. B. EP-A-0194212, EP-A-0305337, EP-A-0485228, EP-A-0725276). Gemäss die-
- 15 sen Verfahren werden agglutinierte Erythrozyten auf oder in der inerten Matrix festgehalten und können damit von nicht-reagierenden einzelnen Erythrozyten getrennt werden, welche die Matrix durchdringen können und am Boden des Reaktionsgefäßes sedimentieren.
- 20 Die Trennmatrizes sind üblicherweise poröse Matrizes (beispielsweise aus Glas); Gelkugel-Matrizes (beispielsweise aus Sephadex, Sephacryl, Agarose: EP-A-0194212, EP-A-0305337) oder Glaskugel-Matrizes (EP-A-0725276). Allen diesen Systemen ist gemeinsam, dass die Trennmatrix und das Trägerelementensystem zwei getrennte Komponenten umfassen. Dasselbe gilt für ebenfalls
- 25 offenbarte Methoden, bei denen anstelle von Kügelchen poröse bzw. Filter-Matrizes verwendet werden. Das Trägerelementensystem wird jeweils mit herkömmlichen (Makro-) Spritzgussmethoden gefertigt.

Die genannten Matrices werden in der blutgruppenserologischen Diagnostik verwendet, insbesondere zur Sichtbarmachung von Hämagglutinationsreaktionen. Sie weisen allgemein Parameter nach, die besonders im Zusammenhang mit Transfusionen bzw. dem Morbus Hämolyticus Neonatorum von Bedeutung sind. Dabei
5 handelt es sich unter anderem um den Nachweis von Antigenen auf der Oberfläche der Erythrozyten, die für die Blutgruppen charakteristisch sind. Weitere wichtige Antigensysteme befinden sich auch auf Thrombozyten, Granulozyten, Lymphozyten, die ebenfalls bei Transfusion und/oder Transplantation eine Rolle spielen. Des weiteren können in ähnlicher Weise hämagglutinierende Viren nach-
10 gewiesen werden.

Die genannten Matrices, insbesondere Gelkugelmatrixes, werden ebenfalls für Partikelagglutinationstests eingesetzt. Bislang wird jedoch nur mit synthetischen Partikeln gearbeitet, die enge Spezifikationen erfüllen, insbesondere eine hohe
15 spezifische Dichte und einen geringeren Durchmesser als Erythrozyten aufweisen (z.B. spezifische Dichte $\geq 1,1$; Durchmesser $< 5 \mu\text{m}$; vgl. EP-0849595).

Die bekannten Verfahren weisen eine Reihe von Nachteilen auf. Durch die Zentrifugation wird zwar eine räumliche Trennung von hämagglutinierten und einzelnen
20 Erythrozyten erreicht, die Reaktionsmatrix für positive und negative Reaktionen umfasst jedoch ein einziges Kompartiment, so dass der Übergang von negativen (nicht-agglutiniert) zu positiven (agglutiniert) Reaktionen fließend ist und die Ergebnisauswertung damit einer gewissen Subjektivität unterliegt. Besonders bei schwach positiven Reaktionen kann die unscharfe Abgrenzung zu negativen Er-
25 gebnissen zu Interpretationsschwierigkeiten führen. Weiterhin hängt die Reproduzierbarkeit der bekannten Verfahren, die insbesondere mit Gelkugel-Matrix funktionieren, stark von der Qualität der Matrix, üblicherweise Polyacrylamid-Gelkugeln, ab. Diese Gele weisen von einer Charge zur anderen Unterschiede auf, die bei gleicher Probe zu unterschiedlich starken Nachweisreaktionen führen
30 können. Dies erschwert die Standardisierung und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Die Empfindlichkeit der Gelpartikel gegenüber jeglicher Art von Scher-

kräften mit der Folge von insbesondere gebrochenen Gelpartikeln ist ein weiteres Problem, das zu verfälschten Reaktionen führen kann. Ferner ist allen hier erwähnten Matrices gemeinsam, dass sie dreidimensional sind und ein großer Bestandteil des Matrixraumes aus den Matrixpolymeren besteht, was dazu führt, dass ein Teil der farbigen Partikel, die in der Matrix eingeschlossen sind, für das bloße Auge verborgen bleiben, also nicht zur Detektion beitragen können. Weiterhin sind diese Verfahren für den Nachweis von Thrombozyteneigenschaften an intakten Thrombozyten wenig geeignet, da Thrombozyten das Gel nur schlecht passieren können.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, die im Hinblick auf den Stand der Technik angeführten Nachteile, insbesondere die unscharfe Trennung des Nachweises von schwach positiven gegenüber negativen Reaktionen in den bekannten Matrices und die Lot-zu-Lot-Schwankungen in Gel-Matrices, zu überwinden, ohne dabei auf die Vorteile der Verfahren gemäss Stand der Technik, wie z. B. die mechanische Stabilität der in der Matrix festgehaltenen Agglutinate (stabiler Endpunkt) verzichten zu müssen. Insbesondere soll eine Trenn-Matrix in Abwesenheit von Gelpartikeln bereitgestellt werden, d. h. es soll ein Raum ohne Matrix im bekannten, engeren Sinne bereitgestellt werden, in dem die Bereiche für positive und negative Reaktionen ohne fließenden Übergang räumlich getrennt sind.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst zum einen durch eine Vorrichtung zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer Probe, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine oder mehrere Reaktionskammer/-kammern und/oder einen oder mehrere Reagenzapplikations-Kanal/-Kanäle und ein oder mehrere Kapillarsystem(e) und ein oder mehrere Negativ-Gefäß(e) umfasst.

Das Kapillarsystem der erfindungsgemäßen Vorrichtung, das sich vorzugsweise einer Reaktionskammer oder einem Reagenzapplikationskanal anschließt, ist integraler Bestandteil eines Trägerelements, welches vorzugsweise aus synthetischen

Materialien besteht, beispielsweise Polyethylen, Polypropylen, Polystyrol, Topas oder Polymethylmetacrylat, und ist selbst Matrix-frei.

5 Ein Kapillarsystem umfasst mindestens eine Kapillare einer Kapillarebene oder eine oder mehrere Kapillaren, die in eine oder mehrere Kapillarebenen verzweigt oder verjüngt sind. Es umfasst in einer bevorzugten Ausführungsform der Vorrichtung eine oder mehrere Kapillaren, die sich stufenweise in weitere Kapillarebenen verjüngen, die jeweils untereinander angeordnet sind, und sich am Ende in einem Negativ-Gefäß sammeln. Das Kapillarsystem umfasst mindestens eine Kapillare einer Ebene, die in ein Negativ-Gefäß mündet. In einer Ausführungsform der Erfindung sind pro Kapillarebene mehrere Kapillaren nebeneinander oder gebündelt angeordnet. Vorzugsweise besitzen nebeneinander oder gebündelt angeordnete Kapillaren einer Kapillarebene die gleiche Durchtrittsfläche für die zu testende Flüssigkeit. Die Durchtrittsfläche der Kapillare oder der Kapillaren einer 10 Kapillarebenen wird um so kleiner, je weiter distal sie von der Reaktionskammer angeordnet sind. 15

Eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung umfasst ein Kapillarsystem mit nur einer Kapillare einer Kapillarebene. Beispielhaft weist die Durchtrittsfläche einer Kapillare dabei weniger als $250.000 \mu\text{m}^2$ auf. 20

In einer bevorzugten Ausführungsform sind die Kapillarebenen des Kapillarsystems durch Kammern verbunden, deren Durchtrittsfläche vorzugsweise genauso groß ist, wie diejenige der Kapillare mit dem größten Durchmesser, wobei die Kammern vorzugsweise der Entlüftung bzw. dem Druckausgleich dienen. In einer 25 weiteren Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung weisen nebeneinander angeordnete Kapillaren einer Kapillarebene Verbindungsstege auf, durch die sie miteinander verbunden sind.

30 In einer bevorzugten Ausführungsform sind die Kapillaren (sofern es sich um mehr als eine Kapillare handelt) der erfindungsgemäßen Vorrichtung in jeder

Ebene parallel nebeneinander und nicht gebündelt angeordnet, wodurch die Farbe der Partikel optimal für die Detektion genutzt werden kann.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung weist vorzugsweise einen Reagenzapplikationskanal auf. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist der Reagenzapplikations-Kanal mit einem Reagenz, beispielsweise ein Puffer, Verstärkerlösungen, Antikörper, vorbefüllt. Beispielfhaft weist der Reagenzapplikationskanal das 1,2-fache Volumen im Vergleich zum Kapillarsystem plus Negativ-Gefäß auf.

10 In einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung weist das Negativ-Gefäß eine nach unten sich verengende, schmaler werdende Form auf, beispielsweise pfeilartig nach unten zugespitzt oder U-förmig. Es ist an seiner Oberseite vorzugsweise mindestens so breit wie die Breite der Summe der Kapillaren der untersten Kapillarebene. Die Oberseite des Negativ-Gefäßes verläuft im rechten Winkel oder in jedem anderen Winkel, insbesondere kleinerem Winkel zum Kapillarsystem. Das Negativ-Gefäß weist in einer Ausführungsform vorzugsweise ein größeres Volumen auf, als das Volumen des gepackten Sediments der eingesetzten Zellen oder Partikel. In einer bevorzugten Ausführungsform ist 20 das Volumen des Negativ-Gefäßes mindestens 0,8 mal so groß wie das Volumen des gesamten Kapillarsystems.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform befindet sich am Negativ-Gefäß mindestens ein Entlüftungskanal, bevorzugt an der breitesten Stelle eines Negativ-Gefäßes, dessen Verbindung zur unteren Ebene des Kapillarsystems vorzugsweise 25 breiter ist als die Breite der Summe der Kapillaren der untersten Kapillarebene, der vorzugsweise außerhalb des Kapillarsystems nach oben verläuft.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform sind mehrere erfindungsgemäße 30 Vorrichtungen (Reaktoren), jeweils mindestens umfassend eine Reaktionskammer, und/oder einen Reagenzapplikations-Kanal und ein Kapillarsystem und ein

Negativ-Gefäß, parallel nebeneinander in ein synthetisches Trägerelement zusammengefasst. Beispielsweise vorhandene Entlüftungskanäle führen durch das Trägerelement nach oben. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform können Teilbereiche der Außenwand eines Reaktors, vorzugsweise im Bereich des Kapillarsystems als optische Linse ausgestaltet sein, die der Wand eines einzelnen Reaktors bzw. der gesamten erfindungsgemäßen Vorrichtung die Funktion einer Lupe verleiht, um die Ablesung schwacher Reaktionen zu erleichtern.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Vorrichtung insbesondere in der blutgruppenserologischen Diagnostik, vorzugsweise zur Bestimmung von menschlichen und tierischen Blutgruppen, Antikörpern gegen Blutgruppen, zur Bestimmung von Thrombozytenmerkmalen und gegen Thrombozyten gerichteten Antikörpern, zur Bestimmung von Leukozytenmerkmalen und gegen Leukozyten gerichteten Antikörpern, zum Nachweis hämagglutinierender Viren, zum Nachweis von Antikörpern gegen Peptide, Proteine, Kohlenhydrate, Nukleinsäuren, Viren, Bakterien, Parasiten, zum Nachweis viraler, bakterieller und parasitärer und anderer Antigene und/oder zum Nachweis von Autoantikörpern und Antikörpern gegen Allergene.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer Probenflüssigkeit durch Sichtbarmachung von Agglutination, dadurch gekennzeichnet, dass man a) die Probenflüssigkeit mit einem Reagenz in Kontakt bringt, b) das Reaktionsgemisch dem Einwirken von Gravitation, insbesondere durch Zentrifugation oder Magnetismus aussetzt, wobei das Reaktionsgemisch das Kapillarsystem der Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 passiert, an welches sich ein Negativ-Gefäß der Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 anschließt und c) die Reaktion zwischen dem Analyten und dem Reagenz bestimmt.

In einer besonderen Ausführungsform wird während dem Verfahrensschritt b) das Reaktionsgemisch mit einem weiteren Reagenz in Kontakt gebracht.

5 In einer weiteren Ausführungsform ist die Reihenfolge der einzelnen Verfahrensschritte aus a) und b) untereinander vertauscht, insbesondere erfolgt das Inkontaktbringen der Probenflüssigkeit mit einem Reagenz erst während des Einwirkens von Gravitation oder Magnetismus. Vorzugsweise umfassen die Probenflüssigkeit und/oder das Reagenz einen oder mehrere Sorten von Partikeln.

10 Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren werden als Partikel insbesondere Erythrozyten, Thrombozyten und/oder Leukozyten bzw. Teile davon eingesetzt oder beispielsweise ein breites Spektrum an synthetischen Partikeln unterschiedlicher Materialien und Dichten, vorzugsweise Polystyrol-Partikel, Polybromstyrol-, magnetische und paramagnetische Partikel, Melamin-, Gelatine-, polymerisierte Ag-
15 rose, Polymethylmetacrylat- oder andere synthetische Partikel.

Eine positive Reaktion ist dadurch gekennzeichnet, dass Teile des Kapillarsystems nach Zentrifugation sichtbar gefärbt sind. Je weiter oben die Zellen hängen bleiben, desto stärker positiv ist die Reaktion. Die Reaktion wird vorzugsweise mit
20 dem blossen Auge, mit optischen oder elektronischen Verfahren bestimmt.

In besonderen Ausführungsformen weisen die Partikel eine natürliche Färbung auf oder sind gefärbt bzw. farbmarkiert oder radio-, fluoreszenz- und/oder enzymmarkiert. In einer besonderen Ausführungsform werden Partikel zur Verstärkung der
25 Reaktion mit proteolytischen Enzymen vorbehandelt.

Bevorzugte Reagenzien, beispielsweise zum Befüllen des Reagenzapplikationskanals, sind insbesondere formulierte Lösungen von monoklonalen, polyklonalen oder rekombinanten Antikörpern bzw. Fragmente davon, die gegen Blutgruppenmerkmale gerichtet sind, anti-Humanglobulin Antikörper bzw. Fragmente davon
30 alleine oder in Kombination mit anti-human Komplement Antikörpern bzw.

Fragmenten davon und/oder Pufferlösungen oder Verstärkerlösungen, welche keine Antikörper enthalten.

Ein weiteres bevorzugtes Reagenz umfasst anti-Humanglobulin Antikörper bzw.
5 Fragmente davon alleine oder in Kombination mit anti-human Komplement Antikörpern bzw. Fragmenten davon, wobei die Dichte der Lösung beispielsweise durch Zugabe von Glycerin, einem Dextran, einem Polyethylenglycol oder anderen künstlichen oder natürlichen Polymeren erhöht wird. Die Erhöhung der Dichte dient dazu, eine Barriere zu schaffen, welche unter den Bedingungen der Zentrifugation Erythrozyten noch passieren lässt, während zellfreies Serum bzw. Plasma
10 zurückgehalten werden. Auf diese Weise wird es möglich, partikelgebundene IgG-Moleküle von nicht partikelgebundenen IgG-Molekülen zu separieren. Der Nachweis partikelgebundener IgG-Partikel findet beispielsweise durch Reaktion mit anti-Humanglobulin-Reagentien, die sich vorzugsweise in der verdichteten
15 Lösung befinden, statt und wird durch Agglutination sichtbar gemacht. Damit dies möglich ist, darf das anti-Humanglobulin-Reagenz nicht vorab durch im Serum/Plasma befindliche und dort im Überschuss vorliegende unspezifische IgG-Moleküle neutralisiert werden. Mit diesem Vorgehen wird es möglich, einen indirekten anti-Humanglobulin-Test ohne Waschschrift durchzuführen.

20 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens, insbesondere zur Bestimmung von Blutgruppen, Antikörpern gegen Blutgruppen, von Verträglichkeiten zwischen Blutkonserve und Empfänger, zur Bestimmung von Thrombozytenmerkmalen und gegen Thrombozyten gerichteten Antikörpern, zur Bestimmung von Leukozytenmerkmalen und gegen
25 Leukozyten gerichteten Antikörpern, zum Nachweis hämagglutinierender Viren, zum Nachweis von Antikörpern gegen Viren, Bakterien, Parasiten, zum Nachweis viraler oder anderer Antigene oder zum Nachweis von Autoantikörpern oder Antikörpern gegen Allergene.

Im Folgenden wird die Erfindung durch Figuren und Beispiele näher erläutert, ohne sie einzuschränken. Es zeigen:

5 Fig. 1 eine Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit mehreren sich nebeneinander angeordneten Kapillaren in mehreren Kapillarebenen, wobei die Durchmesser der einzelnen Kapillaren der höherliegenden Ebenen grösser sind als diejenigen der tieferliegenden Ebenen.

10 Fig. 2 eine Darstellung einer Seitenansicht einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit mehreren Kapillarebenen.

Fig. 3a eine Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer Kapillare einer Kapillarebene.

15 Fig. 3b eine Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer sich verjüngenden Kapillare einer Kapillarebene.

Fig. 3c eine Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit drei Kapillarebenen mit jeweils einer Kapillare.

20

Fig. 3d eine Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit drei Kapillarebenen mit jeweils einer Kapillare, wobei zwei Kammern zwischengeschaltet sind.

25 Fig. 3e eine Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit 3 Kapillaren einer Kapillarebene.

Fig. 3f eine Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit 4 Kapillaren einer Kapillarebene mit Verbindungsstegen.

30 Fig. 3g eine Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung mit einer Kapillare einer Kapillarebene mit 2 Entlüftungskanälen aus dem Negativ-Gefäß.

Fig. 4 eine Darstellung mehrerer (sechs) erfindungsgemäßer Vorrichtungen (Reaktoren) in einer Karte mit je einem Entlüftungskanal und verschiedenen graduierten positiven und negativen Ergebnissen.

5

In Fig. 1 wird beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit dem Ansatz einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2) einem Kapillarsystem (3), bestehend aus mehreren sich verjüngenden Kapillarebenen (3a), wobei die Durchmesser der einzelnen Kapillaren der höherliegenden Ebenen grösser sind als diejenigen der tieferliegenden Ebenen, mit mehreren Kapillaren (3b), und einem Negativ-Gefäß (4) eingebettet im Trägerelement (5).

10

In Fig. 2 wird in Seitenansicht beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit einem Reagenzapplikations-Kanal (2) einem Kapillarsystem (3), bestehend aus mehreren Kapillarebenen (3a), wobei die Durchmesser der einzelnen Kapillaren der höherliegenden Ebenen grösser sind als diejenigen der tieferliegenden Ebenen, mit mehreren Kapillaren (3b), und einem Negativ-Gefäß (4) eingebettet im Trägerelement.

20

In Fig. 3a wird beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2), einem Kapillarsystem (3), bestehend aus einer Kapillare einer Kapillarebene, und einem Negativ-Gefäß (4) eingebettet im Trägerelement (5).

25

In Fig. 3b wird beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2), einem Kapillarsystem (3), bestehend aus einer sich verjüngenden Kapillare einer Kapillarebene, und einem Negativ-Gefäß (4) eingebettet im Trägerelement (5).

30

In Fig. 3c wird beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2), einem Kapillarsystem (3), bestehend aus drei Kapillarebenen mit jeweils einer Kapillare, und einem Negativ-Gefäß (4) eingebettet im Trägerelement (5).

5

In Fig. 3d wird beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2) einem Kapillarsystem (3), bestehend aus einer drei Kapillarebenen mit jeweils einer Kapillare, die durch Kammern (7) getrennt sind, und einem Negativ-Gefäß (4) eingebettet im Trägerelement (5).

10

In Fig. 3e wird beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2) einem Kapillarsystem (3), bestehend aus drei Kapillaren (3b) in einer Kapillarebene (3a), und einem Negativ-Gefäß (4) eingebettet im Trägerelement (5).

15

In Fig. 3f wird beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2) einem Kapillarsystem (3), bestehend aus vier Kapillaren in einer Kapillarebene, die mit Verbindungsstegen (8) mit einander verbunden sind, und einem Negativ-Gefäß (4) eingebettet im Trägerelement (5).

20

In Fig. 3g wird beispielhaft eine erfindungsgemäße Vorrichtung gezeigt mit einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2), einem Kapillarsystem (3), bestehend aus einer Kapillare einer Kapillarebene, und einem Negativ-Gefäß (4), von dem aus am oberen Rand zwei Entlüftungskanäle (6) nach oben führen, eingebettet im Trägerelement (5).

25

In Fig. 4 wird beispielhaft eine Karte mit sechs erfindungsgemäßen Vorrichtungen (Reaktoren) gezeigt, jeweils mit einer Reaktionskammer (1), einem Reagenzapplikations-Kanal (2) einem Kapillarsystem (3), bestehend aus mehreren Ka-

30

pillarebenen mit mehreren Kapillaren, wobei die Durchmesser der einzelnen Kapillaren der höherliegenden Ebenen grösser sind als diejenigen der tieferliegenden Ebenen, und einem Negativ-Gefäß (4), von dem aus am oberen Rand ein Entlüftungskanal (6) nach oben führt, eingebettet im Trägerelement (5). Die einzelnen
5 Reaktoren der Karte zeigen verschieden graduierte positive Ergebnisse im Kapillarsystem (3), nämlich eine stark positive Reaktion (9), eine positive Reaktion (10), eine schwächer positive Reaktion (11) und eine schwach positive Reaktion (12), und negative Reaktionen (13) im Negativ-Gefäß (4).

10

Beispiele

1. Blutgruppenbestimmung

- a) Beide Reaktionspartner werden in das Reaktionsgefäß pipettiert.

15

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl eines Phosphatpuffers pipettiert. Es wird in einer ID-Centrifuge (DiaMed) zentrifugiert (10 min, 85 g). 25 µl einer auf 0.8 % verdünnten Suspension von Blutgruppe A Zellen (Reverse-Cyte A1, Medion Diagnostics) werden in die Reaktionskammer pipettiert, gefolgt von 5 µl anti-A (BIRMA-1, Serologicals). Die Karte wird erneut in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: die Hämagglutinate werden im Kapillarsystem zurückgehalten. Das Negativgefäß bleibt frei von Zellen. Werden anstelle der Reverse-Cyte A1 Zellen ReverseCyte B Zellen verwendet, sammeln sich die Zellen nach der Zentrifugation sichtbar im unteren Bereich des
25 Negativgefäßes.

20

- b) Agglutinationsreagenz vorpipettiert

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl anti-A (BIRMA-1, Serologicals) pipettiert. Die Karte wird in

einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). 25 µl einer auf 0.8 % verdünnten Suspension von Blutgruppe A Zellen (ReverseCyte A1, Medion Diagnostics) werden in die Reaktionskammer pipettiert. Die Karte wird erneut in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: die Hämagglutinate werden im Kapillarsystem zurückgehalten. Das Negativgefäß bleibt frei von Zellen. Werden anstelle der ReverseCyte A1 Zellen ReverseCyte B Zellen verwendet, sammeln sich die Zellen nach der Zentrifugation sichtbar im unteren Bereich des Negativgefäßes.

- c) Agglutinationsreagenz vorpipettiert, Vollblut verdünnt in Bromelinreagenz

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl anti-A (BIRMA-1, Serologicals) pipettiert. Die Karte wird in einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). 50 µl einer Suspension anticoagulierten Vollbluts einer Person mit Blutgruppe A werden mit 500 µl eines Bromelin-Reagens (Diluent 1, DiaMed) gemischt und 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach werden 10 µl dieser Suspension in die Reaktionskammer pipettiert. Die Karte wird sofort in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: die Hämagglutinate werden im Kapillarsystem zurückgehalten. Das Negativgefäß bleibt frei von Zellen. Werden anstelle der Blutgruppe A Zellen Blutgruppe B Zellen verwendet, sammeln sich die Zellen nach der Zentrifugation sichtbar im unteren Bereich des Negativgefäßes.

- d) Agglutinationsreagenz vorpipettiert aber nicht vorzentrifugiert, Vollblut verdünnt in Bromelinreagenz

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl anti-A (BIRMA-1, Serologicals) pipettiert. 50 µl einer Sus-

pension anticoagulierten Vollbluts einer Person mit Blutgruppe A werden mit 500 µl eines Bromelin-Reagens (Diluent 1, DiaMed) gemischt und 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach werden 10 µl dieser Suspension in die Reaktionskammer pipettiert. Die Karte wird sofort in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: die Hämagglutinate werden im Kapillarsystem zurückgehalten. Das Negativgefäß bleibt frei von Zellen. Werden anstelle der Blutgruppe A Zellen Blutgruppe B Zellen verwendet, sammeln sich die Zellen nach der Zentrifugation sichtbar im unteren Bereich des Negativgefäßes.

e) Bestimmung schwacher Blutgruppenmerkmale im Antihumanglobulin-Test: Dweak

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl anti-IgG in PBS, pH 7.4, 10 % Glyzerin, pipettiert. Die Karte wird in einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). 50 µl einer Suspension anticoagulierten Vollbluts einer Person mit Blutgruppe D in schwacher Ausprägung (Dweak) werden mit 500 µl einer Verdünnungslösung (Diluent 2, DiaMed) gemischt. Von dieser Suspension werden 25 µl in die Reaktionskammer pipettiert, gefolgt von 25 µl eines kommerziellen IgG-anti-D Produkts (ESD-1, DiaMed). Es wird für 15 min bei 37 ° C inkubiert und in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Die Erythrozyten werden hämagglutiniert und die Hämagglutinate werden im Kapillarsystem zurückgehalten. Das Negativgefäß bleibt frei von Zellen. Werden anstelle der Blutgruppe D positiven Zellen Blutgruppe D negative Zellen verwendet, sammeln sich die Zellen nach der Zentrifugation sichtbar im unteren Bereich des Negativgefäßes.

2. Serumgegenprobe

In die Reagenz-Applikationskanäle eines Trägerelements werden 5 µl eines niederionischen Puffers (DiaMed, Diluent 2) pipettiert. Danach werden 10 µl je einer Suspension von A1, A2, B, O-Testzellen (DiaMed, ID-DiaCell AB0) in 4 verschiedene Reaktionskammern des Trägerelements pipettiert, darauf werden 10 µl des Plasmas einer zu testenden Person mit Blutgruppe A in die Reaktionskammer dazupipettiert und das Gemisch wird 10 Minuten bei Raumtemperatur (18 bis 25 ° C) inkubiert. Die Karte wird in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Die B-Zellen reagieren positiv, die Hämagglutinate werden im Kapillarsystem zurückgehalten. Das Negativgefäß dieses Reaktors bleibt frei von Zellen. Die drei anderen Zellen (A1, A2, O), die nicht mit den Isoagglutininen im verwendeten Plasma reagieren, sammeln sich nach der Zentrifugation sichtbar im unteren Bereich des Negativgefäßes.

3. Antikörpersuch-Tests

a) Indirekter Antihumanglobulin Test (Indirekter Coombs-Test)

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl eines Gemischs aus anti-IgG und anti-C3d (Medion Diagnostics), das mit 10 % Glycerin (w/v) verdichtet wurde, pipettiert. Die Karte wird in einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). 25 µl einer Blutgruppe O Testzelle für den Antikörper-Suchtest (ScreenCyte 0.8 % I, II, III, Medion Diagnostics) werden in die Reaktionskammer pipettiert, gefolgt von 25 µl Patientenserum. Es wird für 15 min bei 37 ° C inkubiert und in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Enthält das Patientenserum einen irregulären Antikörper, der gegen ein auf einer der Zellen vorhandenes Antigen gerichtet ist, dann werden die Erythrozyten der entsprechenden

Testzellen hämagglutiniert und die Hämagglutinate im Kapillarsystem zurückgehalten. Enthält das Patientenserum keinen irregulären Antikörper, der gegen ein auf einer der Zellen vorhandenes Antigen gerichtet ist, dann werden die Erythrozyten nicht hämagglutiniert. Sie sammeln sich nach der Zentrifugation als sichtbarer roter „Knopf“ im unteren Bereich des Negativgefäßes.

b) Enzym-Test

i) Einphasen-Test

In die Reagenz-Applikationskanäle eines Trägerelements werden 5 µl eines Phosphatpuffers, pH 7.4, pipettiert. Die Karte wird in einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). 25 µl einer Blutgruppe O Testzelle für den Antikörper-Suchtest (Screenocyte I, II, III) werden in die Reaktionskammer pipettiert, gefolgt von 25 µl eines Enzym-Reagens (Diluent 1, DiaMed) und 25 µl Patientenserum. Es wird für 15 min bei 37 ° C inkubiert und in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Enthält das Patientenserum einen irregulären Antikörper, der gegen ein auf einer der Zellen vorhandenes Antigen gerichtet ist, dann werden die Erythrozyten der entsprechenden Testzellen hämagglutiniert und die Hämagglutinate im Kapillarsystem zurückgehalten. Enthält das Patientenserum keinen irregulären Antikörper, der gegen ein auf einer der Zellen vorhandenes Antigen gerichtet ist, dann werden die Erythrozyten nicht hämagglutiniert. Sie sammeln sich nach der Zentrifugation als sichtbarer roter „Knopf“ im unteren Bereich des Negativgefäßes.

ii) Zweiphasen-Test

In die Reagenz-Applikationskanäle eines Trägerelements werden 5 µl eines Phosphatpuffers, pH 7.4, pipettiert. Die Karte wird in einer

ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). 25 µl einer papainisierten Blutgruppe O Testzelle für den Antikörper-Suchtest (ID-DiaCell IP, IIP, IIIP, DiaMed) werden in die Reaktionskammer pipettiert, gefolgt von 25 µl Patientenserum. Es wird für 15 min bei 37 ° C inkubiert und in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Enthält das Patientenserum einen irregulären Antikörper, der gegen ein auf einer der Zellen vorhandenes Antigen gerichtet ist, dann werden die Erythrozyten der entsprechenden Testzellen hämagglutiniert und die Hämagglutinate im Kapillarsystem zurückgehalten. Enthält das Patientenserum keinen irregulären Antikörper, der gegen ein auf einer der Zellen vorhandenes Antigen gerichtet ist, dann werden die Erythrozyten nicht hämagglutiniert. Sie sammeln sich nach der Zentrifugation als sichtbarer roter „Knopf“ im unteren Bereich des Negativgefäßes.

c) Verträglichkeitstest (Kreuzprobe)

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl eines Gemischs aus anti-IgG und anti-C3d (Medion Diagnostics), das mit 10 % Glyzerin (w/v) verdichtet wurde, pipettiert. Die Karte wird in einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). Das Blut einer Konserve wird verdünnt, indem 10 µl Zellsediment mit 1 mL einer Verdünnungslösung (Diluent 2, DiaMed) gemischt werden. Darauf werden 25 µl des verdünnten Konservenbluts in die Reaktionskammer pipettiert, gefolgt von 25 µl Patientenserum. Es wird für 15 min bei 37 ° C inkubiert und in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Enthält das Patientenserum einen Antikörper, der gegen ein Antigen der Erythrozyten des Konservenblutes gerichtet ist, dann werden diese hämagglutiniert und die Hämagglutinate im Kapillarsystem zurückgehalten (Spender und Empfänger inkompatibel). Enthält das Patientenserum keinen unverträgli-

chen Antikörper, sammeln sich die Erythrozyten nach der Zentrifugation als sichtbarer roter „Knopf“ im unteren Bereich des Negativgefäßes.

5 4. Direkter Antihumanglobulin-Test (Direkter Coombs-Test)

10 In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl eines Gemischs aus anti-IgG und anti-C3d (Medion Diagnostics), das mit 10 % Glycerin (w/v) verdichtet wurde, pipettiert. Die Karte wird in einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). 10 µl einer mit IgG beladenen Coombs-Kontrollzelle (Coombs Control, Medion Diagnostics) werden in die Reaktionskammer pipettiert. Es wird sofort in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Da die Coombs Kontrollzelle mit IgG Antikörpern beladen ist, werden die Erythrozyten hämagglutiniert und die Hämagglutinate im Kapillarsystem zurückgehalten. Nicht IgG-beladene Zellen sammeln sich nach der Zentrifugation als sichtbarer roter „Knopf“ im unteren Bereich des Negativgefäßes.

15

5. Partikel-Agglutination mit Zentrifugation: Nachweis von Antikörpern gegen *T. pallidum*

20 In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl eines anti-human IgG (Medion Diagnostics), das mit 10 % Glycerin (w/v) verdichtet wurde, pipettiert. Die Karte wird in einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). Ein mit rekombinanten *T. pallidum* Antigenen (TpN15, TpN 17, TpN 47) beschichtetes Partikel-Reagenz (DiaMed, Syphilis polymer particles) wird während 5 sec auf höchster Stufe gevortext. Dann werden 5 µl eines Patientenserums sowie 25 µl des Partikel-Reagenz in die Reaktionskammer pipettiert. Nach 5 min Inkubation bei Raumtemperatur wird in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Patientenserum, welche Antikörper gegen eines oder mehrere der Syphilisantigene auf den

25

Partikeln enthalten, agglutinieren die Partikel, so dass sie in ähnlicher Weise wie Erythrozyten im Kapillarsystem zurückgehalten werden. Seren von nicht infizierten Personen agglutinieren die Partikel nicht. Dadurch sedimentieren die freien Partikel während der Zentrifugation als sichtbarer bräunlicher „Knopf“ in den unteren Bereich des Negativgefäßes.

6. Partikel-Agglutination mit magnetischer Separation: Nachweis von Antikörpern gegen *T. pallidum*

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl eines anti-human IgG (Medion Diagnostics), das mit 10 % Glyzerin (w/v) verdichtet wurde, pipettiert. Die Karte wird in einer ID-Centrifuge zentrifugiert (10 min, 85 g). Mit rekombinanten *T. pallidum* Antigenen (TpN15, TpN 17, TpN 47) beschichtete Paramagnetische Partikel (estapor microspheres, Frankreich) werden während 5 sec auf höchster Stufe gevortext. Dann werden 5 µl eines Patientenserums sowie 25 µl des Partikel-Reagenz in die Reaktionskammer pipettiert. Nach 5 min Inkubation bei Raumtemperatur wird ein Magnet (LifeSep 1.5 S Magnetic Separation Unit, Dexter Magnetic Technologies, USA) an die Basis des Negativgefäßes gehalten. Ergebnis: Patientenseren, welche Antikörper gegen eines oder mehrere der Syphilisantigene auf den Partikeln enthalten, agglutinieren die Partikel, so dass sie in ähnlicher Weise wie Erythrozyten im Kapillarsystem zurückgehalten werden. Seren von nicht infizierten Personen agglutinieren die Partikel nicht. Dadurch sedimentieren die freien Partikel als sichtbarer bräunlicher „Knopf“ in den unteren Bereich des Negativgefäßes.

7. Bestimmung von Humanem Parvovirus B19 Antigen

In einen Reagenz-Applikationskanal eines Trägerelements werden 5 µl eines PBS-Puffers, der auf pH 5.8 titriert wurde, pipettiert. Danach werden

10 µl einer Suspension papainisierter Testzellen, die das Blutgruppenantigen P tragen in die Reaktionskammer pipettiert, darauf werden 10 µl einer Lösung von rekombinanten VP2 Partikeln in die Reaktionskammer dazupipettiert und das Gemisch sofort in der ID-Centrifuge zentrifugiert. Ergebnis: Die Zellen werden hämagglutiniert, die Hämagglutinate werden im Kapillarsystem zurückgehalten. Das Negativgefäß dieses Reaktors bleibt frei von Zellen. Wird anstelle der VP2 Partikel das Serum einer nicht virämischen Person eingesetzt, sammeln sich die Erythrozyten nach der Zentrifugation sichtbar im unteren Bereich des Negativgefäßes.

Medion Diagnostics GmbH

2. Februar 2004
M101319 BUW/Kös/brä

Patentansprüche

1. Vorrichtung zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer Probe, da-
5 durch gekennzeichnet, dass sie eine oder mehrere Reaktionskammer/-
kammern (1), und/oder einen oder mehrere Reagenzapplikations-Kanal/-
Kanäle (2), und ein oder mehrere Kapillarsystem(e) (3) und ein oder mehrere
Negativ-Gefäß(e) (4) umfasst.
- 10 2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei ein Kapillarsystem (3) mindestens eine
Kapillare (3b) einer Kapillarebene (3a) umfasst oder eine oder mehrere Ka-
pillaren (3b) umfasst, die in eine oder mehrere Kapillarebenen (3a) verjüngt
sind.
- 15 3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das Kapillarsystem (3) sich ver-
jüngenden Kapillarebenen (3a) umfasst, welche untereinander angeordnet
sind.
- 20 4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei in jeder Kapillarebene
(3b) mehrere Kapillaren (3b) nebeneinander angeordnet oder gebündelt sind.
5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei nebeneinander oder
gebündelt angeordnete Kapillaren (3b) einer Kapillarebene (3a) Verbindungs-
stege (8) aufweisen.
- 25 6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei nebeneinander oder
gebündelt angeordnete Kapillaren (3b) einer Kapillarebene (3a) die gleiche
Durchtrittsfläche besitzen.

7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die Durchtrittsfläche der Kapillarebenen (3a) umso kleiner wird, je weiter distal sie von der Reaktionskammer (1) angeordnet sind.
- 5 8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Kapillarebenen (3a) des Kapillarsystems (3) durch Kammern verbunden sind, deren Durchtrittsfläche vorzugsweise genauso groß ist, wie diejenige der größten Kapillare (3b).
- 10 9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei der Reagenzapplikations-Kanal (2) das 1,2-fache Volumen im Vergleich zur Kapillare (3b) bzw. Kapillarsystem (3) plus Negativ-Gefäß (4) umfasst.
- 15 10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei das Negativ-Gefäß (4) ein größeres Volumen aufweist, als das Volumen des gepackten Sediments der eingesetzten Zellen oder Partikel.
- 20 11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei das Negativ-Gefäß (4) eine nach unten schmaler werdende Form, beispielhaft pfeilartig zugespitzt oder U-förmig, aufweist.
- 25 12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, von der ein oder mehrere Entlüftungskanal/-kanäle (6), vorzugsweise vom oberen, breiteren Teil des Negativ-Gefäßes, abzweigt/abzweigen.
- 30 13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei das Kapillarsystem (3) integraler Bestandteil des Trägerelements (5) ist.
14. Verfahren zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer Probenflüssigkeit durch Sichtbarmachung von Agglutination, dadurch gekennzeichnet, dass man
 - a) die Probenflüssigkeit mit einem Reagenz in Kontakt bringt,

5 b) das Reaktionsgemisch dem Einwirken von Gravitation oder Magnetismus aussetzt, wobei das Reaktionsgemisch das Kapillarsystem der Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 passiert, an welches sich ein Negativ-Gefäß der Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 anschließt

und

c) die Reaktion zwischen dem Analyten und dem Reagenz bestimmt.

10 15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei während des Verfahrensschritts b) das Reaktionsgemisch mit einem weiteren Reagenz in Kontakt gebracht wird.

15 16. Verfahren nach Anspruch 14, wobei die Reihenfolge der einzelnen Verfahrensschritte aus a) und b) untereinander vertauscht wird, insbesondere das Inkontaktbringen der Probenflüssigkeit mit einem Reagenz erst während dem Einwirken von Gravitation oder Magnetismus erfolgt.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 16, wobei die Probenflüssigkeit und/oder das Reagenz ein oder mehrere Partikel umfasst.

20

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 17, wobei die Reaktion optisch bestimmt wird.

25 19. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 18, wobei die Partikel eine natürliche Färbung aufweisen oder gefärbt sind.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 19, wobei die Partikel farb-, radio-, fluoreszenz- oder enzymmarkiert sind.

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 20, wobei die Partikel Erythrozyten und/oder Thrombozyten und/oder Leukozyten bzw. Teile davon umfassen.
- 5 22. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 21, wobei die Partikel zur Verstärkung der Reaktion mit proteolytischen Enzymen vorbehandelt werden.
23. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 22, wobei Antikörper insbesondere gegen Peptide, Proteine, Kohlenhydrate, Lipide, Nukleinsäuren, Viren,
10 Bakterien, Parasiten, menschliche Zellen, tierische Zellen oder pflanzliche Zellen bzw. Teile davon an die Partikel gebunden sind.
24. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 23, wobei Antigene oder andere Liganden, wie z.B. Peptide, Proteine, Kohlenhydrate, Lipide, Nukleinsäuren,
15 Viren, Bakterien, Parasiten, menschliche Zellen, tierische Zellen, pflanzliche Zellen oder Allergene bzw. Teile davon an die Partikel gebunden sind.
25. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 24, wobei die Partikel insbesondere Polystyrol, Polybromstyrol, Gelatine, Melamin, polymerisierter Agarose
20 oder Polymehtylmetacrylat umfassen.
26. Verfahren einem der Ansprüche 14 bis 25, wobei die Partikel magnetisch oder paramagnetisch sind.
- 25 27. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 26, wobei die Probenmischung der Gravitation ausgesetzt wird, indem sie einer Zentrifugation unterworfen wird.
28. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 27, wobei die Probenmischung
30 Magnetismus ausgesetzt wird.

29. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 28, wobei die Probenflüssigkeit menschliches, tierisches oder pflanzliches Material umfasst, insbesondere Blut oder Blutbestandteile.

5 30. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 29, wobei das Reagenz insbesondere Antikörper, Testzellen, synthetische Partikel, Puffer oder Verstärkerlösungen, umfasst.

10 31. Verfahren nach einem der Ansprüche 14 bis 30, wobei dem Reagenz Glycerin oder andere Moleküle zur Erhöhung der spezifischen Dichte der Lösung zugefügt werden.

15 32. Verwendung der Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 insbesondere in der blutgruppenserologischen Diagnostik, vorzugsweise zur Bestimmung von Blutgruppen, Antikörpern gegen Blutgruppenmerkmale, von Verträglichkeiten zwischen Blutkonserve und Empfänger, zur Bestimmung von Thrombozytenmerkmalen und gegen Thrombozyten gerichteten Antikörpern, zur Bestimmung von Leukozytenmerkmalen und gegen Leukozyten gerichteten Antikörpern, zum Nachweis hämagglutinierender Viren, zum Nachweis von Antikörpern gegen Proteine, Viren, Bakterien, Parasiten, zum Nachweis viraler oder bakterieller oder parasitärer oder anderer Antigene und/oder zum Nachweis von Autoantikörpern und gegen Allergene gerichteten Antikörpern.

20

Zusammenfassung

5 Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer Probe, dadurch gekennzeichnet, dass sie eine oder mehrere Reaktionskammer/-kammern, und/oder einen oder mehrere Reagenzapplikations-Kanal/-Kanäle, und ein oder mehrere Kapillarsystem(e) und ein oder mehrere Negativ-Gefäß(e) umfasst.

10

Des weiteren betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer Probenflüssigkeit durch Sichtbarmachung von Agglutination, dadurch gekennzeichnet, dass man a) die Probenflüssigkeit mit einem Reagenz in Kontakt bringt, b) das Reaktionsgemisch dem Einwirken von Gravitation
15 oder Magnetismus aussetzt, wobei das Reaktionsgemisch das Kapillarsystem der erfindungsgemäßen Vorrichtung passiert, an welches sich ein Negativ-Gefäß der erfindungsgemäßen Vorrichtung anschließt und c) die Reaktion zwischen dem Analyten und dem Reagenz bestimmt, und ein solches Verfahren, bei dem während des Verfahrensschritts b) das Reaktionsgemisch mit einem weiteren Reagenz
20 in Kontakt gebracht wird.

Weiter betrifft die Erfindung ein solches genanntes Verfahren, wobei die Reihenfolge der einzelnen Verfahrensschritte aus a) und b) untereinander vertauscht wird, insbesondere das Inkontaktbringen der Probenflüssigkeit mit einem Reagenz
25 erst während dem Einwirken von Gravitation oder Magnetismus erfolgt.

1

2

3

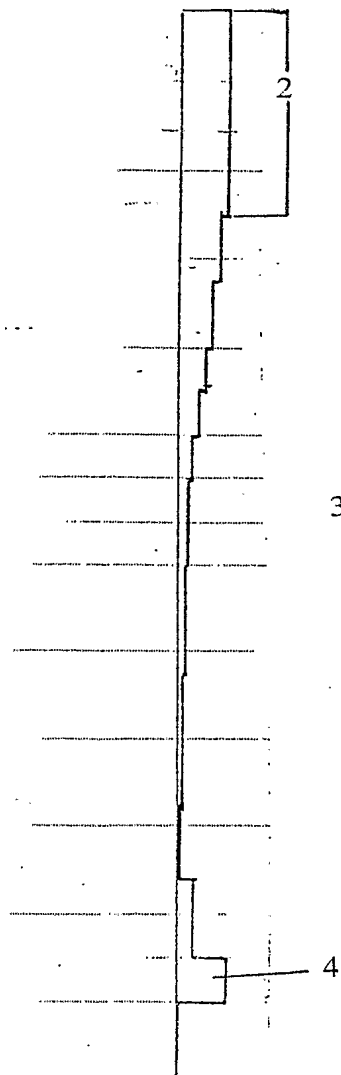
3a

3b

4

5

FIG. 2



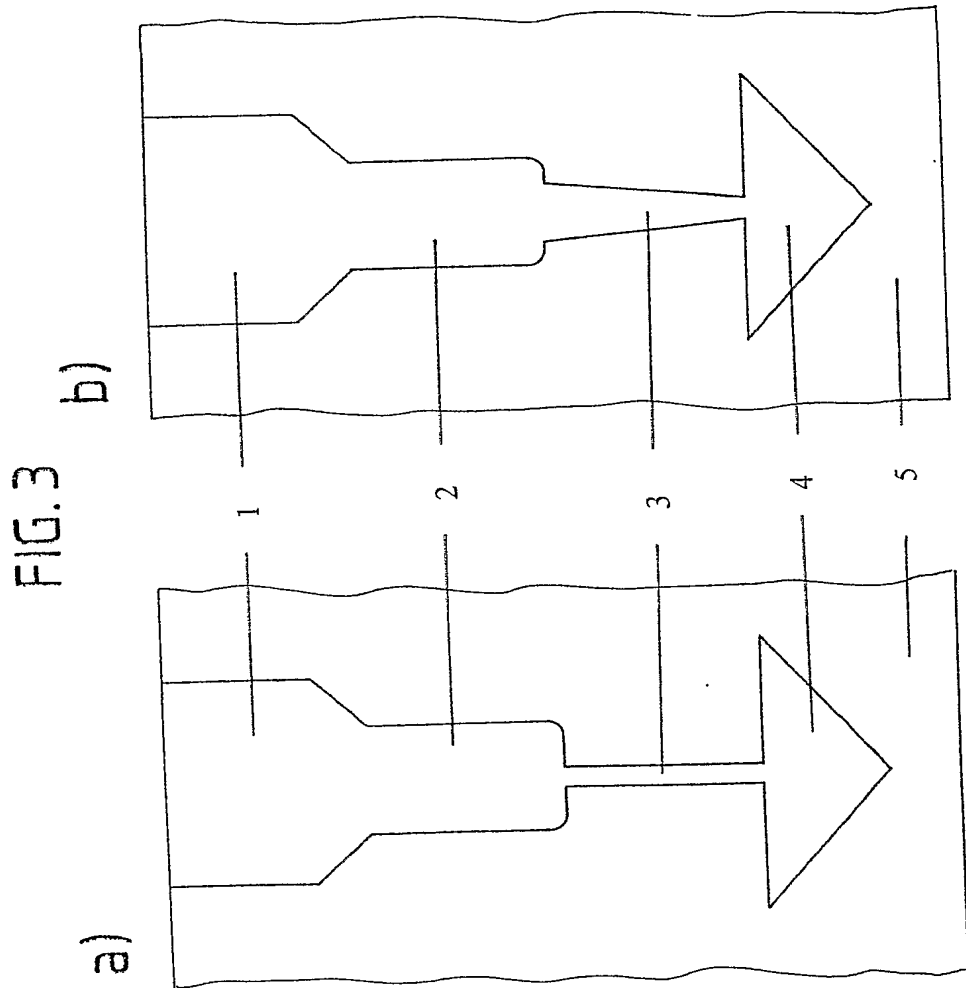


FIG. 3

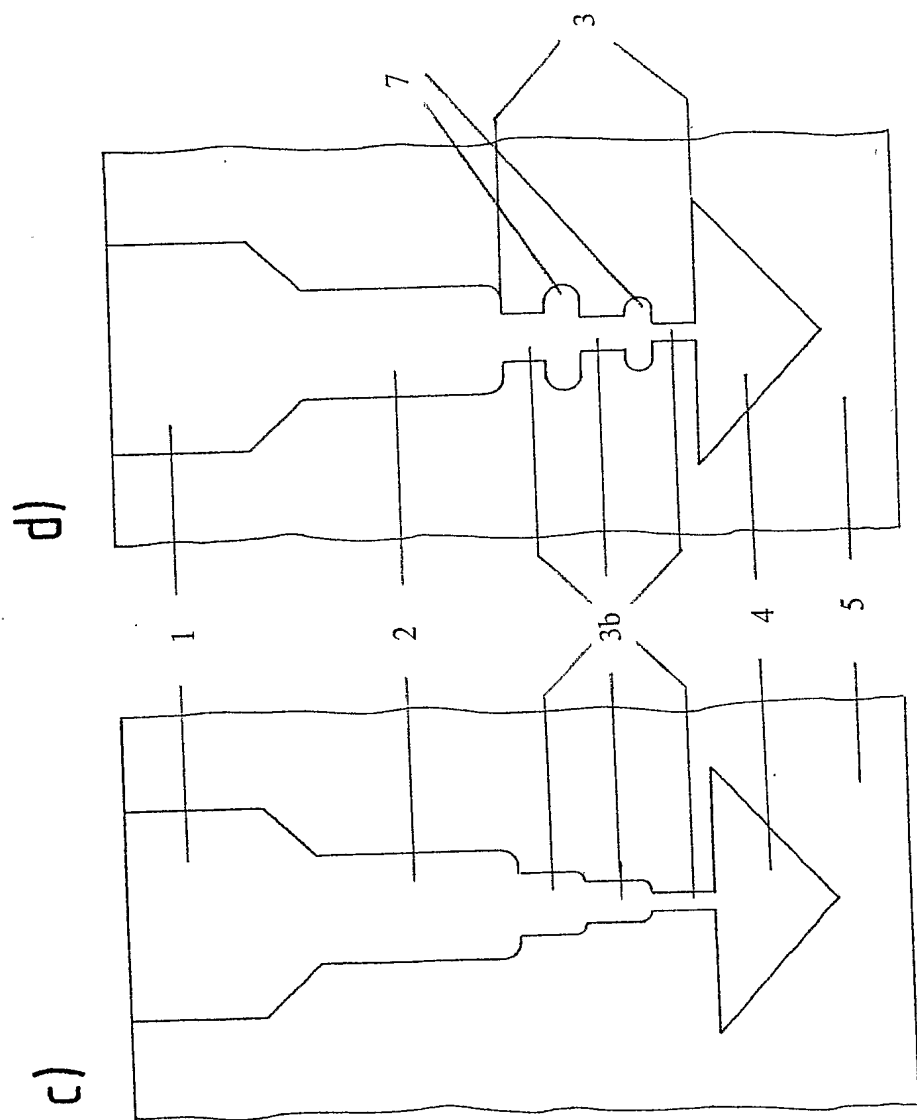


FIG. 3

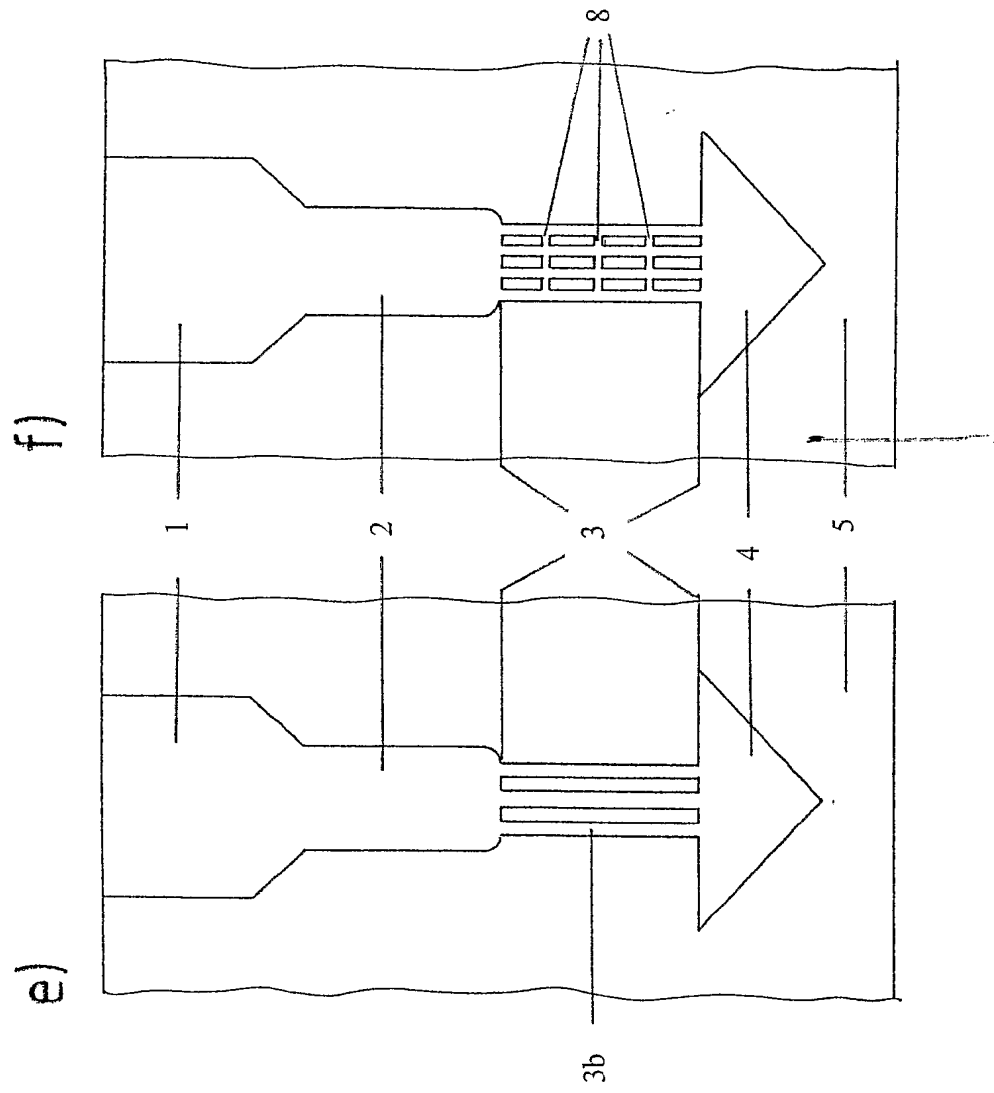


FIG. 3

g)

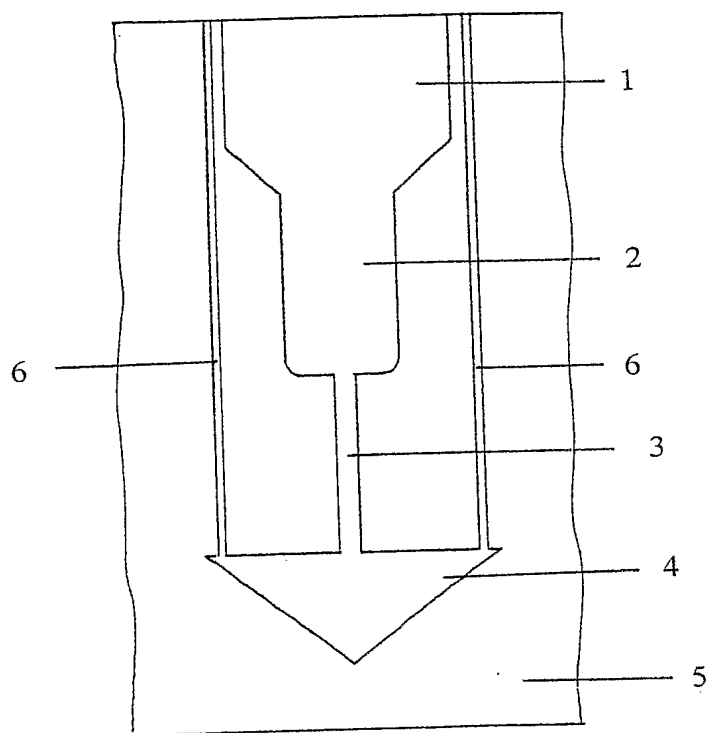


FIG. 4

